Untersuchungen

über

das Lab und die labähnlichen Fermente.

Preisschrift

als

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe

der

hohen medicinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Richard Peters

pract. Arzt aus Schwerin.

Rostock.

Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.

1894.

Untersuchungen

über

das Lab und die labähnlichen Fermente.

Preisschrift

als

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshülfe

der

hohen medicinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Richard Peters

pract. Arzt aus Schwerin.

Rostock.

Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.

1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553619_0053

Inhaltsverzeichnis.

Historische Einleitung.

Seite

Indische Veden 5
Altes Testament 6
Homer 6
Aristoteles 7
Theocrit von Syracus 8
Varro 8
Columella 9
Dioscorides 10
Geoponica 11
Petrus de Crescentiis 11
Bartholomäus Anglicus 12
Conrad Heresbach 13
Conrad Gessner 14
Johannj Coler 14
Forscher des 17. und 18. Jahrhunderts 16
Forscher des 19. Jahrhunderts 17
Hammarsten 18

Experimenteller Theil.

A. Das Lab.

Das verwandte Material 19
Die Aufbewahrung desselben 19
I. **Die Bedingungen für das Eintreten der Labwirkung** . 20
Die Reaction der Lablösung 20
Die angewandte Quantität des Ferments 20

Seite

Die Reaction der Milch 21
Das Temperatur-Optimum bei der Labwirkung . . 22
Der Einfluss der Verdünnung der Milch 22
Der Einfluss des Kochens der Milch 23
Der Einfluss fremder Substanzen 26
a) Salze 27
b) Alkaloide 30
c) Calciumhydrat 31
II. **Die Art der Einwirkung auf das Caseinogen** 32
III. **Die Wirkung des Labs auf andere Eiweisskörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs** 35
1. Auf das Casein und seine Spaltungsproducte 36
2. Auf das gekochte Molkeneiweiss und seine Spaltungsproducte 37
3. Auf andere Eiweisspräparate tierischen und pflanzlichen Ursprungs 39

B. Die labähnlichen Fermente.

I. Das Hodensekret 43
II. Die labproducierenden Mikroorganismen 44
III. Verschiedene Pflanzensäfte 45
IV. Abwechselndes Wirken von Lab und labähnlichen Fermenten auf verschiedene Eiweisskörper 57
Zusammenfassung der Resultate 59

Die Kenntnis der Existenz und der Wirkung des Labs und der labähnlichen Fermente sowie deren Anwendung ist eine überaus alte.

Allerdings ist die Erwähnung dieser Substanzen in dem ungeheuren Berg von Litteratur, der auf allen Gebieten des Lebens und Wissens von den frühesten Zeiten bis auf unsere Tage sich aufgetürmt hat, immerhin so selten, dass selbst eine überaus sorgfältige und eingehende Sichtung des gesamten Materials eine verhältnismässig sehr geringe Ausbeute geliefert hat. Doch ist selbst dies Wenige in vieler Beziehung von solchem Interesse, dass es als historische Einleitung zu einer kurzen Zusammenfassung der wissenschaftlichen Forschungen über diese Fermente und ihrer bisherigen Ergebnisse meinen neuerdings angestellten Studien über das Lab und die labähnlichen Fermente vorangestellt sein mag.

Die ältesten Urkunden und Aufzeichnungen, die bis auf unsere Zeit gekommen, die indischen Veden, sprechen zwar von Milch und Butter, jedoch von Käse, dem Product der Labwirkung, überhaupt noch nicht. Somit ist anzunehmen, dass zu jener Zeit, wenigstens in jenem Lande, in Indien, die Wirkung käsebereitender Substanzen noch unbekannt war.

Das alte Testament, — an Alter wohl das nächstfolgende, — kennt den Käse schon, und zwar sind von den vielen zweifelhaften, von Luther z. T. mit „Butter“ übersetzten Ausdrücken, doch drei ganz bestimmt als „Käse“ aufzufassen, nämlich 1. Sam. 17, 18: חַרִיצֵי הַחֲלָב, ferner Job. 10, 10: גִּבְנָה, endlich Proverb. 30, 33: חֶמְאָה. Über die Bereitung findet sich aber nicht die leiseste Andeutung, wenn nicht die offenbare Unterscheidung der Süssmilchkäse (1. Sam. 17, 18) von den Sauermilchkäsen den Schluss zulässt, dass labähnliche Fermente bekannt und in Anwendung gewesen sein müssen, da ohne solche Süssmilchkäse nicht bereitet werden konnten.

Um so wahrscheinlicher wird dies, wenn wir in Homers Werken, die um dieselbe Zeit (1000 v. Chr.) entstanden sein dürften, die Anwendung von labenden Substanzen schon angegeben finden. Im neunten Buch der Odyssee finden wir den Cyclopen Polyphem mit dem Melken seiner Schafe beschäftigt: den einen Teil der gewonnenen Milch verzehrt er sofort, mit dem andern Teil aber, heisst es v. 246 f., machte er folgendes:

αὐτίκα δ' ἥμισυ μὲν θρέψας λευκοῖο γάλακτος
πλεκτοῖς ἐν ταλάροισιν ἀμησάμενος καθέθηκεν.

Das „τρέφειν“ bedeutet hier „gerinnen lassen“ mittelst Feigenlab, dessen Kenntnis und Anwendung aus einem dichterischen Vergleich in der Ilias erhellt, wo es E. 902 f. heisst:

ὡς δ' ὅτ' ὀπὸς γάλα λευκὸν ἐπειγόμενος συνέπηξεν
ὑγρὸν ἐὸν, μάλα δ' ὦκα περιστρέφεται κυκόωντι, —.

Wenn Homer den Vorgang des Gerinnens der Milch durch Lab aber schon in dieser Kürze bildlich hier verwendet, so setzt das voraus, dass das Lab damals allgemein bei den Griechen schon bekannt und angewandt war. Interessant daran ist besonders,

dass jenes erste Lab, was somit urkundlich und nachweislich zur Käsebereitung gebraucht wurde, nicht das seinem anatomischen Sitz und seinen physiologischen Eigenschaften nach zur Milchgerinnung bestimmte Lab des Säugetiermagens war, sondern ein labähnliches Ferment, dessen Wirkung — wohl durch Zufall — im Safte des Feigenbaumes, seiner Blätter, Zweige und Früchte entdeckt war. Es muss das um so auffälliger erscheinen, als die Griechen im Interesse der Opferschau gerade der Splanchnologie so grosse Aufmerksamkeit und Beachtung schenkten, und wirklich wunderbar, dass bei der verschiedenen Verwendung der Eingeweide beim Opfer, die oft mit Trankopfern — Wein und Milch — gemischt stattfanden, der Zufall nicht eher zu dieser Entdeckung führte, wie zu jener des Feigenlabs, für die wir an keiner Stelle eine Erklärung finden, sondern nur durch allerlei Combinationen Vermutungen aufzustellen vermögen.

Über ein halbes Jahrtausend vergeht nun, ohne dass wir an irgend einer Stelle der sich stets mehrenden Litteratur auch nur das geringste Neue erfahren; erst Aristoteles (um 350 v. Chr.), der auf so vielen Gebieten bewanderte und schriftstellerisch thätige, spricht in „De animalibus historiae libri decem" auch über das Lab. Hier wird neben dem Feigenlab auch das Lab des Säugetiermagens schon als ebenso wirksam genannt. Liber III, cap. 21 schreibt er:

„Πήγνυσι δὲ τὸ γάλα ὀπός τε συκῆς καὶ πυετία· ὁ μὲν οὖν ὀπὸς εἰς ἔριον ἐξοπισθεὶς, ὅταν ἐκπλυθῇ πάλιν τὸ ἔριον εἰς γάλα ὀλίγον· τοῦτο γὰρ κεραννύμενον πήγνυσιν. ἡ δὲ πυετία γάλα ἐστί· τῶν γὰρ ἔτι θηλαζόντων ἐστὶν ἐν τῇ κοιλίᾳ. Γίγνεται μὲν οὖν ἡ πυετία γάλα ἔχον ἐν ἑαυτῷ τυρόν. ἐκ δὲ τῆς τοῦ ζώου θερμότητος πεττομένου τοῦ γάλακτος γίγνεται. Ἔχει δὲ πυετίαν τὰ μὲν μηρυκάζοντα

πάντα, τῶν δ' ἀμφωδόντων δασύπους. Βελτίων δ' ἐστὶν ἡ πυετία, ὅσῳ ἂν ᾖ παλαιότερα· συμφέρει γὰρ πρὸς τὰς διαῤῥοίας ἡ τοιαύτη μάλιστα καὶ ἡ τοῦ δασύποδος· ἀρίστη δὲ πυετία ἡ τοῦ νεβροῦ."

Man ist also auf die Wirkung des Labs dadurch gekommen, dass man im Magen frischgeschlachteter, noch kurz vor dem Tode mit Milch getränkter Kälber und anderer Tiere die Milch zu Käseklumpen geronnen vorfand; eine Thatsache, zu deren Zustandekommen man die tierische Wärme als notwendigen Factor ebenfalls richtig erkannte. Auch mit verschiedenen Labmagen scheint man schon experimentirt zu haben, da auch nach dieser Seite hin Aristoteles ganz bestimmte Angaben macht.

Der folgende Schriftsteller ist wieder ein Dichter, Theocrit von Syracus (um 280 a. Chr.), der in seinen „εἰδύλλια" den Käse öfter erwähnt, über seine Bereitung aber nur an zwei Stellen spricht. Idylle IX, Κύκλωψ, v. 65 f. bittet der Cyklope seine Geliebte, die Galathea:

Ποιμαίνεν δ' ἐθέλοις σὺν ἐμὶν, ἅμα καὶ γάλ' ἀμέλγεν,
Καὶ τυρὸν πᾶξαι, τάμισον δριμεῖαν ἐνεῖσα.

Ferner Idylle XXV, v. 106, wo Herkules die Herden des Augias bewundert, heisst es:

Ἄλλος ἀμόλγιον εἶχ', ἄλλος τρέφε πίονα τύρον.

Auch hier wird, wie an der Stelle Odysse IX, 246, aus der schnellen Käsebereitung, die zugleich mit und neben dem Melken stattfand, zu entnehmen sein, dass künstliche Mittel zur Gerinnung angewandt wurden, da das spontane Gerinnen der Milch mindestens einen oder mehrere Tage in Anspruch genommen hätte.

Nicht viel mehr, wie Aristoteles, weiss uns einige Jahrhunderte später Varro (um 50 a. Chr.) zu erzählen, wenn er „De re rustica" liber II, cap. 11 schreibt:

„In lactis duos congios addunt magnitudine oleae, ut coeat, quod melius leporinum et haedinum quam agninum. Alii pro coagulo addunt de fici ramo lac et acetum, aspergunt item aliis aliquot rebus, quod Graeci appellant alii ὀπόν, alii δάκρυον."

Dagegen giebt Columella (50 n. Chr.) in seinem Werk „De re rustica" liber VII, cap. 8, genauere Anweisungen für das richtige Auslaben des Käses, auch die labende Wirkung der Disteln und anderer pflanzlicher Fermente ist ihm schon bekannt:

„Sed lacte fieri debet (sc. caseus) sincero et quam recentissimo. nam requietum vel mistum, celeriter acorem concipit. id plerumque cogi agni aut hoedi coagulo; quamvis possit et agrestis cardui flore conduci et seminibus cneci, nec minus ficulneo lacte, quod emittit arbor, si ejus virentem faucies corticem. Verum optimus caseus est, qui exiguum medicaminis habet . . . Nec dubium, quin fici ramulis glaciatus caseus jucundissime sapiat. Sed mulctra, cum est repleta lacte non sine tepore aliquo debet esse. nec tamen admovenda est flammis, ut quibusdam placet, sed haud procul igne constituenda et confestim, cum concreuit, liquor in fiscellas aut in calathos vel formas transferendus est. nam maxime refert primo quoque tempore serum percolari, et a concreta materia separari . . ."

Über die Bereitung von ὀξυγάλα (weicher gewürzter Käse) macht er Angaben, aus denen nicht recht hervorgeht, ob die hierbei der Milch zugesetzte Kresse labend oder würzend wirken soll. A. a. O. liber XII, cap. 8:

„Oxygalam sic facito . . . Sunt qui sativi vel etiam silvestris lepidii herbam cum col-

legerunt, in umbra siccent, deinde folia ejus abjecto caule die et nocte muria macerata expressaque, lacte misceant sine condimentis . . . ., nonnulli recentia folia lepidii cum dulci lacte in olla miscent et post diem tertium, quem admodum praecepimus, serum emittent . . . . . "

Durch einen Versuch habe ich sicher gestellt, dass die frischen Blätter von Lepidium nicht labend wirken, hier also nicht als Ferment, sondern lediglich als Würze gedient haben.

Fast ein Zeitgenosse des Columella ist der Grieche Dioscorides Pedakius, der Altmeister der physiologischen Chemie (um 50 n. Chr.), dessen Kenntnisse und Angaben gerade über das Lab recht mangelhaft sind; so erwähnt er nur das Feigenlab, dessen Wirkung er durch Säure zu beschleunigen sucht, während das tierische Lab ihm unbekannt zu sein scheint, da er nirgend davon spricht.

Πεδακίου Διοσκωρίδου τὰ σωζόμενα ἅπαντα, ed. Saracenus, Haered., Wecheli 1598, fol. περὶ ὕλης ἰατρικῆς liber II, cap. 77, pag. 105 heisst es:

Περὶ σχίστου γάλακτος.

„Σχίζεται δὲ πολῦ γάλα ζεννώμενον ἐν καινῇ χυτρᾳ (!) κεραμίᾳ καὶ κινούμενον κλάδῳ συκίνῳ νεομήτῳ, καὶ μετὰ τὸ ζέσαι δὶς ἢ τρὶς σπιῤῥαίνεται ὀξυμέλιθος κύαθος πρὸς ἑκάστην (!) κωτύλιον τοῦ γάλακτος. οὕτω γὰρ διερίζεται ὁ ὀῤῥὸς τοῦ τυρώδους."

Nach dem Dioscorides tritt nun eine lange Pause ein, und wir finden in keiner der Schriften fast des ganzen folgenden Jahrtausends, mögen sie handeln, wovon sie wollen, das Lab erwähnt. Es liegt das sowohl in den geschichtlichen Ereignissen und Umwälzungen jener Folgezeit begründet, als auch z. T. in dem Verlust sovieler Litteraturerzeugnisse, die jener Zeit ihre Entstehung verdanken.

Erst Geoponicorum sive de re rustica libri XX, eine Sammlung älterer und neuerer landwirthschaftlicher Abhandlungen, die um 970 auf Befehl des Kaisers Constantin V. von Cassianos Bassos herausgegeben wurden, enthalten bei Besprechung des Molkereiwesens wieder Angaben über die Wirkung und Verwendung des Labs. Liber XVIII, cap. 19 heisst es u. a.:

„Plerique caseos eo coagulant, quod primum aliqui ὀπόν vocant, plurimi autem ex agricolis πιτύαν nominant: Praestat ex haedis. Sal etiam torrefactus lac coagulat et fici succus et teneri ipsius ramuli aut folia, et pili qui in verticulis cinarae enascuntur, qui inepti sunt ad cibum, et piper et domesticae gallinae pellicula, quae intra ventriculum stercori destinata est." —

Neu ist hierin vor allem die labähnliche Wirkung der Artischockenhaare und das Niederschlagen des Milcheiweisses durch Kochsalz, wie es heute noch zum Teil geschieht. —

Und wieder schweigt die gesamte Litteratur ein halbes Jahrtausend lang, bis wir aus dem 1486 gedruckten Buch „Opus ruralium commodorum Petri de Crescentiis" [1]) wieder etwas vom Lab vernehmen. Es heisst dort im neunten Buche in dem Abschnitt „Quando et qualiter debent mulgeri (sc. oves) et caseus fieri et servari" u. a.:

„Caseum coagulamus sincero lacte coagulis agni vel edi. vel pellicula que (!) solet pullorum ventribus adhaerere vel agrestis cardui floribus vel lacte ficulneo, cui serum debet anne deduci ut et ponderibus vigeatur. Ubi ceperit solidari: opaco loco ponatur aut frigido." —

[1]) Königsberger Universitätsbibliothek.

Das ist alles. Man sieht daraus: Fortschritte sind in den fünfhundert Jahren keineswegs gemacht, sondern der Autor tritt die alten Bahnen nur wieder einmal aus.

Nur zwei Jahre später, also 1488, erscheint ein Buch des Bartholomaeus Anglicus (eigentlich Glanvil) „De proprietatibus rerum" in 19 Büchern in Strassburg, ein Werk, dessen Latinität für uns z. T. schwer verständlich, dessen Inhalt aber wegen einiger oben noch nicht erwähnter Citate und der Erklärungsversuche gerade in Bezug auf die Wirkung des Labs interessant genug ist, um hier im Auszuge mit Platz zu finden:

Liber XIX, cap. 74 „de coagulo" lautet:

„Coagulum est lac in quorundam animalium stomachis inspissatum. Cujus virtute lac aliorum animalium coagulatur in qua parte butyrosa caseata aggregata. Pars serosa et aqua a partibus aliis sequestratur, ut dicit Aristoteles libro tertio. Quanto inquit lac est spissius tanto caseatius et coagulatius. Sed lac animalis carentis dentibus in superiori mandibula coagulatur. Lac vero animalis habentis in utraque non sicut nec ejus sepum. Item idem dicit: Lac coagulatur ex coagulo et lacte ficuum cum lac ficuum aggregatur in lana deinde abluitur illa cum modico lacte: et citius illud lac admiscetur cum residuo et sic totum coagulatur. Item ibidem: coagulum non invenitur nisi in ventre sugentium adhuc ruminantium. In illis, quae non habent dentes in utraque mandibula non invenitur nisi in lepore: quantocunque autem plus vetustatur erit melius. Et valet perfluxum ventris maxime leporis parvi et cervi. Ut dicit idem Aristoteles. Item libro XVI dicit: accidit lacti quod coagu-

latur per coagulum, cum coagulum est lac, in quo est calor spiritualis. Et ideo adjuvat et sustentat lac sicut maris sperma sustentat menstrualem sanguinem feminae in matrice. Cum natura lactis et sanguinis menstrui eadem sunt, ut dicit idem ibidem. De coagulo dicit Isaac capite de caseo, coagulum, inquit, coagulatur virtute sui acuminis et caloris atque siccitatur sibi denaturatur quibus sua humiditas finitur. Et quamvis coagulum sit in omni caseo minus tamen sentitur in recenti parte multitudinem suae bumsditatur (!). Coagulum itaque in stomacho lactantis animalis et ruminantis invenitur cum sal admiscetur et sic super ignem in fumo desiccatur et induratur, cujus modica particula cum in pauco lacte tepido resoluta est, cum residuo lacte admixta totum coagulabit quod est coagulabile et condensat.“ —

Im sechszehnten Jahrhundert schreibt Conrad Heresbach ein Buch: „Rei rusticae libri quattuor, Köln 1571“. Alles, was er darin über das Lab angiebt, scheint auch nur früheren Schriftstellern entnommen zu sein, doch sei der Vollständigkeit wegen das Wenige hierher gesetzt. Liber III, fol. 256 schreibt der Verfasser:

„Fit et caseus ex omni fere lacte quadrupedum in fictile vas infuso, indito adjectoque pauxillo coaguli, nempe lactis duobus cogiis magnitudine oleae ut coeat. Probatur coagulum leporinum aut hoedinum magis quam agninum Varroni: Nos plurimum utimur vitulino. Sunt qui addunt lac ficulneum et acetum. Alii utuntur pellicula, quae avium ventribus adhaeret vel agrestis cardui floribus . . . Duabus aut tribus horis a coagulo indito lac concrescit . . .“

Gleichfalls aus dieser Zeit stammt das Buch von Conrad Gessner: „Libellus de lacte et operibus lactariis philologus pariter ac medicus". Tiguri 15..[1]) Das Buch enthält manches Interessante über die Wirkung des Labs, so fol. 27 „De lacte in grumos coacto" und „De coagulo", Notizen und Beschreibungen, auf die wir ihrer Umfänglichkeit und teilweisen Unverständlichkeit halber hier nur verweisen können. Wesentlich Neues wird weder in diesen Capiteln, noch in den späteren: Galenus de coagulo, — Iterum de caseo e Dioscoride, — Ex Varrone de re rustica, — Palladius de caseo faciendo, — Casei faciendi ratio authore Columella etc. dem Leser geboten.

Die letzte hier in Betracht kommende Schrift stammt aus dem 17. Jahrhundert, die „Oeconomia ruralis et domestica.[2]) Hiebevor von M. Johanj Colero beschrieben, jetzo in dieses corrigirtes Haussbuch gebracht etc. Maintz 1645." In diesem landwirthschaftlichen Werk giebt der Lausitzer Pastor Coler pag. 411, cap. LXX: „Wie man guten Rogen oder Magen zum Labe, und wie man Käse machen soll", folgendes Recept:

„Nim den Magen vom Kalbe / waſche ihn rein auß / und lieſe die Körner oder Klöſichen / die drinnen ſeyn / von der Milch / herauß / waſche ſie auch fein rein / ſaltze den Magen ein / und laſſe ihn drey Tage im Saltze liegen / und ſende ein Ey oder ſechs / hacke ſie klein und menge ſie mit den Klöſichen untereinander / thue auch ein wenig Mehl drunter ſaltze es und knete es wohl untereinander / und fülle es wieder in den eingeſaltzenen Magen / und hang's in Rauch / eine Woche oder drey. Darnach hangs in die Lufft /

[1]) Hamburger Stadtbibliothek.
[2]) Danziger Stadtbibliothek.

wie sonsten ein Fleisch / das es nicht stinkend oder Madicht wird. Wenn man die Milch stellen oder Läben will / so schabe ein wenig davon in einen Löffel voll Milch / und geuß es unter die ander Milch / die nicht sehr heiß / sondern nur Sommerlohe seyn muß / laß also stehen / so rinnet sie als eine Gallart. Dann rühre es umb / daß es kleine Motten werden / und lege sie in die Käsenäpfichen / wie Du sie haben wilt. Oder nim den außgewaschenen eingesaltzenen Magen und streiff ihn an ein Holtz / daß er in der Luft hart treuget. Send ein Tröpflein voll Saltzwasser / laß es kalt werden / schneide ein Stücklein vom getreugten Magen wirffs ins kalte Saltzwasser / nim einen Löffel voll aus dem Saltzwasser / da der Magen innen liegt / geuß es in die lohe Milch / einen halben oder gantzen Löffel voll / darnach es viel Milch ist / damit kan man ein groß Faß voll Milch läben. — Etliche gießen nur ein wenig Saltzwasser und ein wenig Weinessig in die Milch / davon gerinnet sie auch / sonderlich Schaffmilch und Ziegenmilch / setzen oder hangen sie aber über kein Fewer. — Etliche gießen nur ein wenig Saltzwasser drein / und hangens über ein linde Fewer. Es muß aber gar mehlich gewermet und laulicht werden / sonst wird's zu spröde und zehe / wann man die Milch zu heiß macht. Also pfleget mans hier in diesem Lande / und in der Schlesien zu machen / zu Rom hat mans vorzeiten anders gemacht / wie aus dem Varrone zu ersehen." —

Damit ist unsere ganze Ausbeute erschöpft, und wir wenden uns nunmehr schon einer Periode zu, in welcher wissenschaftliche Forschung auf den verschiedenen Gebieten der Chemie allmählich erwacht, in der dann auch Untersuchungen über die Labwirkung angestellt wurden; aber nicht um des Labs selber willen, nicht um seine physiologische Bedeutung und Wirkung festzustellen, sondern umgekehrt: bei

der Untersuchung über das Wesen, die Bestandteile und das Verhalten der Milch wurde auch die bekannte Labreaction wieder hervorgeholt und deshalb dem Lab hier und dort Aufmerksamkeit geschenkt.

Wir müssen, um dies deutlich zu machen, einen Augenblick scheinbar abschweifen, indem wir in Kürze die wissenschaftlichen Forschungen über die Milch, unter denen die Labanwendung erst ziemlich spät auftaucht, in weiten Umrissen skizzieren.

Nachdem der italienische Professor Fabrizio Bartoletti im Jahre 1619 das Molkeneiweiss und den Milchzucker aus der Milch dargestellt hatte, entdeckte zu Ende jenes Jahrhunderts (1697) Anton von Leeuwenhoek durch mikroskopische Forschung die Milchkügelchen.

Im achtzehnten Jahrhundert folgen schon zahlreichere Arbeiten über den Ursprung der Milch, ihre gesamten Bestandteile und ihr Verhalten zu verschiedenen Substanzen.

So fand u. a. Boerhave 1732, dass die Milch durch Zusatz von oleum tartari scheinbar gerann, während 1779 Voltelen schon Vegetabilien, Metalle, Säuren, neutrale und alkalische Salze auf die Milch einwirken liess.

Trotzdem Scheele um dieselbe Zeit (1780) eingehende Milchuntersuchungen anstellte, so hat er doch auffallenderweise die Einwirkung des Labs nie zum Gegenstande derselben gemacht.

Dagegen stellten bald darauf (1787) mehrere Forscher, u. a. von Stiprian, Luiscius, Bondt zwecks Analyse der Milch den Käse durch Lab dar, bei welcher Gelegenheit sie auch einige wenige Untersuchungen über das Lab des Kälbermagens machten, dem sie z. B. die Wirksamkeit auf Pferde- und Frauenmilch absprachen.

Parmentier und Deyeux gaben (1793) in ihren Arbeiten über die Milch an, dass Schwefel, Salz und Phosphorsäure die Milch zum Gerinnen bringen; ebenso Essig und andere pflanzliche Säuren, während von den Pflanzen selbst die Disteln, Artischockenblüten, Galläpfel, Sauerampfer, Sauerklee coagulierend wirken sollen, dagegen das Labkraut und einige andere nicht. Der Zusatz von Alkali verzögert die Gerinnung durch Lab, die ohne jenes stets eintritt.

Hier darf man wohl mit Recht halt machen, um damit eine im ganzen noch wenig fruchtbare Periode wissenschaftlicher Forschung auf chemischem Gebiet abzuschliessen; eine Periode, der eine neue Aera folgt, die mit dem geschickten Analytiker und hervorragenden Chemiker Berzelius am Anfang dieses Jahrhunderts beginnt. Mit der reinen Chemie nimmt auch die physiologische Chemie einen ungeheuren Aufschwung. Auch über das Lab und seine coagulierende Wirkung sind eingehende Untersuchungen in grosser Zahl zu verzeichnen. Wie gering aber gerade auf diesem Gebiete bis fast in die jüngste Zeit die Fortschritte gewesen sind, zeigt sich aus einem Vergleiche der Aussagen von Berzelius (1840) und dem Franzosen Duclaux, der im Jahre 1884 über das Lab gearbeitet.

„Auf welche Weise das Lab dieses Coagulum bewirkt, ist zu erklären ganz unmöglich", so lautet das Schlussbekenntnis von Berzelius[1]), und Duclaux fasst zum Schluss seiner Arbeit[2]): „Action de la présure sur le lait" die Quintessenz seiner Forschungen dahin zusammen: „Pour tout dire en un mot le problème de la coagulation me paraît

[1]) Lehrbuch der Chemie 1840, pag. 679.
[2]) Compt. rend. 1884, pag. 528.

simplement un problème de mécanique moléculaire, dont nous savons poussé la solution aussi loin qu'elle peut l'être dans l'état actuel de la science, en le classant à son rang parmi les problèmes de même nature, qui attendent depuis longtemps la leur....."

Es würde den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten, wollte ich auf alle Erklärungsversuche, die in Bezug auf die Labwirkung gemacht worden sind, hier näher eingehen; vielmehr glaube ich, mich darauf beschränken zu müssen, nur eine der wichtigeren Anschauungen, und zwar jene, die heute am meisten Anerkennung und noch nirgend eine Widerlegung gefunden hat, hervorzuheben, nämlich diejenige von Hammarsten.

Die hauptsächlichsten Ergebnisse seiner Arbeiten lassen sich in folgenden Sätzen kurz zusammenfassen:

1) Lab wirkt nur auf das Casein der Milch, auf andere Eiweisskörper jedoch nicht.

2) Die Coagulationsfähigkeit des gelösten Caseins ist abhängig von der Anwesenheit einer genügenden Menge Calciumphosphats.

3) Der chemische Verlauf bei der Käsebildung nach Labzusatz besteht in einer Spaltung, indem das Casein in mindestens zwei neue Eiweisskörper zerfällt, von denen der eine, der Käse, schwer löslich, der andere dagegen leicht löslich ist.

In den nun zunächst folgenden Mitteilungen werde ich die von mir angestellten Versuche in systematischer Reihenfolge schildern, zuerst die mit dem **Lab** gemachten, und zwar dessen Wirkung 1) auf das Caseinogen der Milch, auch bei Gegenwart fremder Substanzen, und 2) auf andere

Eiweisskörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs. Darauf folgt die Darstellung weiterer Experimente mit **labähnlichen** Fermenten ebenfalls nach den genannten beiden Richtungen.

A. Das Lab.

Zu sämtlichen Versuchen wurde die Labessenz Witte (Rostock) benutzt, die vor dem Labpulver derselben Fabrik den Vorzug hat, dass nicht vor jeder Versuchsreihe neue Lösungen angefertigt zu werden brauchen, da solche auch bei genauester Abwägung und sorgfältigster Mischung wegen der ausserordentlichen Wirkungskraft dieses Pulvers und bei der Verschiedenheit des Präparats selbst stets ungleich ausfallen. Es ist dies wohl vor Allem auf die schwere Löslichkeit des Labpulvers, selbst in warmem Wasser, zurückzuführen, wobei auch diejenige Temperatur nicht überschritten werden darf, welche das Ferment unwirksam macht.

Bei der Aufbewahrung muss die Labessenz, damit sie sich lange hält, sauer reagieren und vor allen Dingen frei gehalten werden von Verunreinigungen aller Art, insbesondere Mikroorganismen und deren Keimen, weil diese die Fermentwirkung zwar langsam, aber sicher zerstören. So bewirkten 10 Tropfen einer zufällig verdorbenen, mit Pilzen dicht durchsetzten Labessenz, von der bei einem früheren Versuch in frischem Zustand die gleiche Tropfenzahl 100 ccm Milch in 9 Minuten gelabt hatte, erst nach $1^1/_2$ Stunden eine Coagulation derselben Quantität Milch; nach weiteren 4 Wochen zeigte sich die Essenz völlig unwirksam.

I. Die Bedingungen für das Eintreten der Labwirkung.

Die Wirkung einer Labessenz hängt unbedingt von ihrer Reaction ab.

Schon häufig ist in früheren Arbeiten darauf hingewiesen, dass Lab sowohl bei saurer, wie bei neutraler und alkalischer Reaction der Essenz wirkt, am schnellsten jedoch, wenn dieselbe sauer reagiert. Es sei dies nur erwähnt, denn für alle von mir angestellten Versuche musste ich notwendigerweise die betreffenden zu verwendenden Labessenzmengen vorher vorsichtig neutralisieren, da sonst ausser dem Ferment auch die Säure noch als mitwirkender Factor bei der Coagulation in Betracht kam, ja, der letztere die Wirkung des ersteren unter Umständen soweit überwog, dass dieses Coagulum durch die Säure entstand, ehe das Ferment wirksam wurde, wie nachstehender Versuch zeigt.

Versuch I.

1.	2.
20 ccm Milch.	20 ccm Milch.
15 Tropfen neutralen Labs.	15 Tropfen stark sauren Labs.
Gerinnung erst nach 2 Minuten bei 40°.	Sofortige Gerinnung bei 14°.

Von grosser Wichtigkeit ist ferner die angewandte Quantität des Labs. Schon des öfteren ist von verschiedenen Autoren durch ausführliche Versuche der Nachweis geliefert, dass sich die Fermentmenge und die Gerinnungsdauer umgekehrt proportional verhalten. Bei der Wiederholung dieses Versuches fand ich diese Angaben im Ganzen richtig; doch zeigte der folgende von mir angestellte

Versuch, dass Lab über eine gewisse Quantität hinaus der Milch zugesetzt, die Gerinnung nicht mehr beschleunigt.

Versuch II.

No.	Milch ccm	Lab gtt.	G.-Z.*)
1	40	5	8
2	40	10	4
3	40	20	$2^1/_2$
4	40	30	$2^1/_2$

*) G.-Z. bedeutet „Gerinnungszeit in Minuten".

Die weiteren Bedingungen für die Wirkung des Labs liegen in der Beschaffenheit der zu labenden Flüssigkeit. Zu den zunächst in Betracht kommenden Untersuchungen bediente ich mich der reinen frischen Kuhmilch, die ich im Verlaufe der Experimentreihe dann mannigfachen Veränderungen unterzog. Wichtig sind folgende Thatsachen, die zwar durchweg schon früher gefunden sind, aber doch einer Zusammenstellung und Vergleichung an dieser Stelle nicht unwert erscheinen.

Lab coaguliert die Milch bei alkalischer, neutraler, saurer und amphoterer Reaction, doch so, dass es am schnellsten bei saurer, am langsamsten bei alkalischer Reaction der Milch wirkt; bei allzustarker alkalischer Reaction tritt keine Fällung ein. Es sei letzteres nur der Vollständigkeit halber erwähnt: Beobachtungen sind in dieser Richtung häufig genug gemacht, so dass die Mittheilung weiterer Versuche überflüssig erscheint.

Das Labferment wirkt, wie ebenfalls schon früher von verschiedenen Forschern bewiesen ist, am schnellsten bei Körpertemperatur.

Die Wirkung der Labessenz Witte ist bei 18° C. erst nach einer Stunde bemerkbar, sie tritt am schnellsten ein bei 40,5° C. und nimmt dann wieder ab bis zu 56°, wo sofortige Tödtung des Ferments bemerkbar ist. Um nun dies Optimum von 40,5° bei allen meinen Versuchen gleichmässig anwenden zu können und Beobachtungsfehler nach dieser Seite hin möglichst auszuschliessen, wurde ein grosses Wasserbad benutzt mit einem Durchmesser von 40 cm, einer Höhe von 26 cm und einem Inhalt von $26^1/_2$ Litern. In der Höhe von 17 cm über dem Boden war eine vielfach durchlöcherte Platte zum Aufstellen der Gefässe angebracht. Durch dies Wasserbad wurde es ermöglicht, grössere Versuchsreihen, selbst mit 10 Glascylindern nebeneinander, auszuführen, ohne dass bei der grossen Wassermenge durch die hineingesetzten Gläser eine merkliche Abkühlung eintrat. Erwärmt wurde das Wasserbad von einer kleinen leicht regulirbaren Gasflamme, und die Temperatur des Wassers konnte jederzeit an einem schwimmenden Thermometer abgelesen werden. Von den verschiedenen erprobten Gefässen erwiesen sich für die zu labenden Flüssigkeiten am geeignetsten kleine Cylinder von 10 cm Höhe, 4 cm Durchmesser und 100 ccm Inhalt.

Von bemerkenswerthem Einfluss ist die Verdünnung der Milch mit Wasser. Dieselbe verzögert die Gerinnung mit Zunahme der Verdünnung; bei einer allzustarken tritt Coagulation nicht mehr ein. Dagegen ist es möglich, durch vermehrten Labzusatz die hindernden Folgen der Verdünnung wieder aufzuheben, so dass eine grössere Quantität Lab eine verdünnte Milch ebensoschnell gerinnen lässt, wie ein kleineres Labquantum dieselbe Menge reiner Milch.

Zum Belege dienen die nachstehenden Versuche:

Versuch III.

No.	Milch ccm	Wasser ccm	Lab gtt.	G.-Z.
1	5	15	10	—
2	5	15	15	—
3	5	15	20	46
4	5	15	25	21
5	5	15	30	13

Im folgenden Versuch wird die Verdünnung 1 : 1 als normal angenommen und dann geprüft, wie viel mehr Lab einer Verdünnung 1 : 2 zugesetzt werden muss, damit letztere ebensoschnell gerinnt.

Versuch IV.

20 ccm

No.	Mischung	Lab gtt.	G.-Z.
1	1 : 1 W	5	14
2	1 : 2 W	11	17
3	1 : 2 W	12	16
4	1 : 2 W	13	15
5	1 : 2 W	15	14

Seit langem bekannt ist endlich, dass das Kochen die Milch so verändert, dass ihre Gerinnung durch Lab davon wesentlich beeinflusst wird. Doch ist die Angabe, die sich bei manchen Autoren, so zuletzt bei Eugling[1]) und bei

[1]) Eugling, „Studien über das Casein der Kuhmilch und die Labfermentwirkung". Landwirtschaftliche Versuchsstationen 31, pag. 391—405.

Schaffer[1]), findet, die gekochte Milch könne durch Lab niemals coaguliert werden, unrichtig, vielmehr ist nur eine Verzögerung in dem Eintreten der Gerinnung zu bemerken.

Das zeigen folgende Versuche:

Es werden je 20 ccm Milch mit gleichem Volumen Wasser verdünnt genommen.

Versuch V.

No.	Milch	Lab gtt.	G.-Z.
1	Roh	5	4
2	Gekocht	15	$4^1/_2$
3	Gekocht	20	4
4	Gekocht	25	3

Versuch VI.

No.	Milch	Lab gtt.	G.-Z.
1	Roh	3	$9^1/_2$
2	Gekocht	12	$9^1/_2$
3	Roh	4	$5^1/_2$
4	Gekocht	16	$5^1/_2$

Es ist für die Fällung der gekochten Milch also ungefähr die vierfache Menge Lab nötig gegenüber der rohen.

Das Aufkochen der Milch geschah, indem genau 500 ccm in einem gusseisernen Topfe zum Sieden gebracht und unter fortwährendem Rühren noch 30 Minuten darin erhalten wurden. Die Abkühlung geschah möglichst rasch in einem grossen kalten Wasserbade unter weiterem beständigen Rühren; auf diese Weise konnte die Häutchenbildung vollständig vermieden werden. Das während des Kochens verdampfte Wasser wurde im Messglase wieder genau hinzugefüllt.

Festzustellen, welcher Art die chemische Veränderung ist, die beim Kochen mit der Milch vorgeht und ihr verschiedenes Verhalten zum Lab-

[1]) Schaffer, „Über das Casein und die Wirkung des Labferments in der Kuhmilch". Landwirtschaftl. Jahrb. der Schweiz. 1887.

ferment bedingt, ist mir nicht gelungen. Jedoch möchte ich die Erklärung von Eugling[1]), welcher behauptet, „es bilde sich beim Kochen eine ausreichende Quantität Verbindungen alkalischer Natur, um die Labwirkung nicht eintreten zu lassen", nicht für zutreffend erachten. Wäre es nämlich so, dann müsste zur Fällung der gekochten Milch auch mehr Säure (verdünnte Essigsäure) nötig sein, wie zur Ausfällung der rohen; dass dies aber gerade umgekehrt ist, zeigt der nachstehende Versuch (VII), in welchem stark (1 : 10) verdünnte Milch verwendet und das Kochen bis zu 120 Minuten — von Beginn des Kochens an gerechnet — fortgesetzt wurde.

Versuch VII.

No.	Dauer des Kochens in Minuten	Zur Ausfällung erforderliche Säuretropfen
1	0	19
2	30	16
3	45	16
4	60	16
5	120	16

Versuch VIII.

Die Milchverdünnung wird weniger stark (1 : 1), die Säureverdünnung über doppelt so stark genommen, die Kochzeit beträgt 60 Minuten.

No.	Milch	Zur Ausfällung erforderliche Säuretropfen
1	Roh	25
2	Gekocht	20

[1]) a. a. O.

Schon des öfteren ist in früheren Arbeiten auf die wichtige Thatsache aufmerksam gemacht, dass die Labwirkung durch die Anwesenheit fremder Substanzen beeinflusst werde. Ausgehend von der Anwesenheit des Calciums in der Milch und der Notwendigkeit seiner Gegenwart für das Zustandekommen der Gerinnung durch Lab, was noch Wright[1]) vor kurzem wieder nachgewiesen, haben verschiedentlich Forscher, so zuletzt M. Arthus[2]), durch Experimente weiter nachgewiesen, dass bei der Labgerinnung das Calcium auch durch Strontium, Magnesium und Baryum vertreten werden könne. Letzteres fand ich bei meinen eigenen Versuchen vollauf bestätigt.

In Rücksicht auf diese vorangegangenen Versuche erschien es mir eine dankbare Aufgabe, auch den Einfluss weiterer fremder Substanzen auf die Labwirkung experimentell festzustellen. Bei der Wahl dieser fremden Substanzen schloss ich mich im wesentlichen der Auswahl und Zusammenstellung an, die mein hochverehrter Lehrer Herr Professor O. Nasse in seinen „Untersuchungen über die ungeformten Fermente“[3]) im Jahre 1875 getroffen hatte. Derselbe benutzte damals die Diastase, das Pankreasferment, den Speichel und das invertirende Ferment, die er bei Gegenwart verschiedener Salze und Alkaloide auf ihre Wirkung prüfte. Dabei zeigte sich „eine sehr bedeutende Abhängigkeit der Fermente in ihrer Wirkung von der gleichzeitigen Anwesenheit von Salzmolekülen, und zwar eine

---

[1]) Vergl. A. E. Wright. On the possible advantages of employing decalcified milk in the feeding of infants and invalids. The Lancet 1893, pag. 194.

[2]) C. R. Soc. de Biologie 1893, pag. 435.

[3]) Pflügers Archiv XI, pag. 138. 1875.

Abhängigkeit spezifisch für jedes Ferment" (pag. 157), ein Beweis, dass alle diese Fermente verschiedene Stoffe sind, da sie sich bei diesen Versuchen, die einer chemischen Reaction am besten vergleichbar sind, verschieden verhielten.

Ähnliche Versuche mit dem Lab und weiterhin auch mit labähnlichen Fermenten mussten je nach der Übereinstimmung oder Verschiedenheit in dem Verhalten der einzelnen Fermente den Salzen oder andern fremden Substanzen gegenüber wenigstens einen Wahrscheinlichkeitsschluss gestatten, ob dieselben identisch oder nicht.

a) Zunächst benutzte ich bei den nachfolgenden Versuchen neun verschiedene Salze, und zwar die Kalium-, Natrium- und Ammonium-Salze der Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure.

Versuch IX.

Ich füllte 10 Cylinder mit je 25 ccm reiner Milch und fügte je 4 Procent der fremden Substanzen hinzu, wobei die Volumina die gleichen blieben. Bei Benutzung zweier verschiedener Milchsorten gerann die in den Gläsern enthaltene Milch in folgender Weise:

No.	Substanz	Milch I G.-Z.	Milch II G.-Z.
1	H_2O	$2^1/_2$	$2^1/_2$
2	KCl	3	3
3	KNO_3	4	$4^1/_2$
4	K_2SO_4	4	4
5	NaCl	3	$3^1/_2$
6	$NaNO_3$	4	4
7	Na_2SO_4	5	5
8	NH_4Cl	7	7
9	NH_4NO_3	7	$7^1/_2$
10	$(NH_4)_2SO_4$	—	—

Versuch X.

Um die Beobachtung zu verschärfen, füllte ich in die 10 Cylinder je 25 ccm 1 : 1 verdünnte Milch, je 10 Labtropfen und wieder je 4 Procent der fremden Substanzen. Es gerannen:

No.	Substanz	Milch III G.-Z.	Milch IV G.-Z.
1	H_2O	$3^1/_2$	4
2	KCl	6	7
3	KNO_3	$13^1/_2$	12
4	K_2SO_4	8	7
5	NaCl	8	7
6	$NaNO_3$	13	8
7	Na_2SO_4	26	22
8	NH_4Cl	—	—
9	NH_4NO_3	—	—
10	$(NH_4)_2SO_4$	—	—

Versuch XI.

25 ccm 1 : 1 verdünnte Milch erhalten je 10 Tropfen Lab und 1 Procent an fremden Substanzen. Die Gerinnung trat in folgender Weise ein:

No.	Substanz	Milch V G.-Z.	Milch VI G.-Z.
1	H_2O	$2^1/_2$	3
2	KCl	4	4
3	KNO_3	6	$5^1/_2$
4	K_2SO_4	5	5
5	NaCl	4	$4^1/_2$
6	$NaNO_3$	5	$5^1/_2$
7	Na_2SO_4	7	7
8	NH_4Cl	8	8
9	NH_4NO_3	8	8
10	$(NH_4)_2SO_4$	9	10

Wir sehen also, dass sämmtliche Salze auf die Gerinnung einen hemmenden Einfluss ausüben, wenigstens in den angewandten Mengen von 1 und 4 Procent.

Stellen wir die Nummer nach der Gerinnungsdauer um, so ergiebt sich folgende veränderte Reihenfolge:

No.	Versuch IX	Versuch X	Versuch XI
1	H_2O	H_2O	H_2O
2	KCl	KCl	KCl
3	NaCl	NaCl	NaCl
4	K_2SO_4	K_2SO_4	K_2SO_4
5	$NaNO_3$	$NaNO_3$	$NaNO_3$
6	KNO_3	KNO_3	KNO_3
7	Na_2SO_4	Na_2SO_4	Na_2SO_4
8	NH_4Cl	NH_4Cl	NH_4Cl
9	NH_4NO_3	NH_4NO_3	NH_4NO_3
10	$(NH_4)_2SO_4$	$(NH_4)_2SO_4$	$(NH_4)_2SO_4$

Allerdings sind die in Versuch IX und X gleichzeitig geronnenen Nummern, was ja in freiem Belieben lag, der Reihenfolge von IX entsprechend geordnet, wodurch sich eine vollständige Uebereinstimmung der drei (resp. sechs) Versuchsreihen ergab. Auffallend ist es, dass die Ammoniumsalze insgesamt am meisten hindernd wirken, während die Kalium- und Natriumsalze sich nicht genau von einander scheiden.

b) Als fremde Substanzen wandte ich ferner an: das Coffein, Chininum hydrochloricum, Morphium hydrochloricum, Strychnin, Veratrin und im Controlversuch Aq. destill. Von sämtlichen wurden 2procentige Lösungen

hergestellt, die, soweit sie schwach sauer reagierten, vorsichtig neutralisiert wurden. Dann stellte ich folgende Versuche damit an:

Versuch XII.

Sechs Cylinder werden mit 50 ccm einer Mischung 1 M : 1 W gefüllt, erhalten je 2 Labtropfen und je 40 Tropfen der obigen Lösungen. Es gerinnen:

No.	Substanz	G.-Z.
1	Aqua destillata	8
2	Chinin	1
3	Morphin	4
4	Strychnin	$4^1/_2$
5	Veratrin	$4^1/_2$
6	Coffein	6

Versuch XIII.

Sechs Cylinder mit 80 ccm derselben Mischung 1 : 1 erhalten je 80 Tropfen der genannten Lösungen und 2 Tropfen Lab. Es gerinnen:

No.	Substanz	G.-Z.
1	Aqua destillata	13
2	Chinin	4
3	Morphin	7
4	Strychnin	$7^1/_2$
5	Veratrin	9
6	Coffein	11

In beiden angestellten Versuchen wirken die hinzugefügten Alkaloide fördernd auf die Gerinnung: denn die nebenher zur Controle mit derselben Tropfenzahl von Aq. destill. versehenen Milchmengen

gerannen stets zuletzt; auch die Reihenfolge der die Gerinnung befördernden Stoffe bleibt stets dieselbe.

Um jedoch auch sicher zu stellen, dass diese Substanzen nicht selbst — zufällig — schon labend wirken, wurde im Anschluss an Versuch XIII auch ein Gefäss mit Milch und dem am stärksten die Coagulation befördernden Chinin ohne Lab in's Wasserbad gestellt; doch trat Gerinnung selbst nach 2 Stunden noch nicht ein.

c) Endlich wurde die Einwirkung von Kalkwasser als fremde Substanz bei der Labgerinnung in folgenden Versuchen beobachtet.

Versuch XIV.

Es werden 6 Cylinder mit 25 ccm einer Mischung 1 : 1 gefüllt, je 2 Tropfen Lab hinzugefügt und den einzelnen je 0, 1, 2, 3, 4, 5 ccm Kalkwasser zugesetzt.

No.	Kalkwasser ccm	G.-Z.
1	0	3
2	1	4
3	2	4
4	3	5
5	4	8
6	5	125

Der Versuch zeigt, dass das Kalkwasser durchaus hindernd wirkt; dem Einwand aber zu begegnen als wäre nicht die Anwesenheit des Kalkes, sondern allein schon die damit verbundene Verdünnung schuld an der Verzögerung, dient der folgende Versuch.

Versuch XV.

Um die Gerinnungsdauer überhaupt zu verlängern, nehmen wir die Mischung 1 M : 3 W, füllen 8 Cylinder mit je 50 ccm, fügen je 10 Tropfen Lab hinzu und füllen zur einen Hälfte verschiedene Mengen von $Ca(OH)_2$, zur anderen entsprechend Wasser.

No.	Kalkwasser ccm	Aq. dest. ccm	G.-Z.
1	5	—	18
2	—	5	10
3	10	—	70
4	—	10	14
5	15	—	—
6	—	15	17
7	20	—	—
8	—	20	22

Es zeigt sich also, dass der Kalkwasserzusatz von 10 ccm die Gerinnung bis auf 70 Minuten verzögert, ein vermehrter Kalkgehalt dagegen die Coagulation ganz aufhebt, während der doppelte Wasserzusatz von 20 ccm eine Gerinnung nach 22 Minuten zulässt.

II. Über die Art der Einwirkung des Labs auf die Milch

sind verschiedene Behauptungen aufgestellt worden. Ohne auf dieselben näher einzugehen, möchte ich gleich sagen, dass ich auf Grund meiner folgenden Versuche mich der Ansicht von Hammarsten anschliesse: dass nämlich die Labwirkung in einer Spaltung des vorhandenen Eiweisses in ein lösliches und ein unlösliches besteht.

Dabei befinde ich mich aber in zwei Punkten im Gegensatz zu Hammarsten. Der erste Punkt betrifft die viel umstrittene Frage, ob ein oder mehrere Eiweisskörper in der Milch vorhanden sind; der zweite Punkt: ob auch das durch Lab aus der Milch ausgefällte Casein durch Lab nochmals ausgefällt werden kann, wird im folgenden dritten Teil zur Sprache kommen.

Fast alle früheren Forscher haben das Vorhandensein mehrerer Eiweisskörper in der Milch angenommen: neben dem Casein ein Albumin und noch einen dritten, bald als Lactoprotein, bald als Gelactin, bald als Pepton bezeichneten. Auch Hammarsten stimmt für mehrere, ich dagegen für einen, den ich Caseinogen (Halliburton) nennen möchte. Allerdings lässt sich dieser Gesamteiweisskörper nicht mit einem Male durch Säurezusatz aus der Milch abscheiden, sondern kann nur bei genügender Verdünnung der Milch durch hinreichend verdünnte Säure in mehreren Acten gewonnen werden. Es ist dies aber nur die Folge unserer technischen Unvollkommenheit, und aus dieser einzig und allein scheint mir die Thatsache zu resultieren, dass man nach dem Ausfällen der Milch durch Säure stets in dem Filtrat noch Eiweiss fand, welches man, statt es noch einmal der Säurewirkung zu unterwerfen, auf andere Weise gewann, sei es durch Kochen oder durch Zusatz von Reagentien, wie salpetersaures Quecksilberoxyd, und das infolgedessen denn auch als ein anderes aufgefasst wurde.

Ich schlug dagegen ein neues Verfahren ein, durch welches es mir — allerdings unter grossen Schwierigkeiten — gelang, das gesamte Eiweiss der Milch nur durch Säure auszufällen. Nachdem zunächst durch Säurezusatz ein Niederschlag von Eiweiss erzielt war, wurde derselbe abfiltriert und

das Filtrat durch äusserst verdünnte Kalilauge wieder zur Alkalescenz gebracht, worauf sich aus demselben durch Säurezusatz das vorher bei dem nicht zu vermeidenden Säureüberschuss noch in Lösung gebliebene oder wieder in Lösung gegangene Eiweiss abschied. Dieser Vorgang wurde vier- bis fünfmal wiederholt; bei vorsichtigem Arbeiten fand sich dann auch in dem letzten Filtrat kein Eiweisskörper, auch kein Lactoprotein mehr vor, — andernfalls wurde die Ausfällung noch öfter wiederholt.

Dieser so gewonnene Eiweisskörper der Milch wird durch Lab in einen löslichen und einen unlöslichen gespalten, wie ich in vielen Versuchen beobachtete, von denen nur der nachstehende angeführt werden möge.

Versuch XVI.

Es wurde aus einem Liter Milch das Caseinogen, und zwar nach der zweiten Hammarstenschen Methode rein dargestellt, indem die Milch mit 9 Litern Wasser verdünnt und vorsichtig mit Essigsäure unter Zuhülfenahme des von mir eben beschriebenen Verfahrens gänzlich ausgefällt wurde. Dann wurde der Niederschlag abfiltriert, der Rückstand auf dem Filter und in der Reibschale mit Wasser mehrfach ausgewaschen, darauf in einer schwachen Sodalösung aufgelöst und abfiltriert, und das schwach opalisierende Filtrat von neuem mit verdünnter Essigsäure gefällt. Dies wurde dreimal wiederholt. So erhielt man eine gänzlich von Fett und Milchzucker freie Substanz, die dann in möglichst wenig Kalkwasser gelöst wurde. Bei Labzusatz entstand ein reichliches, auf dem Boden sich absetzendes Coagulum. Dass in diesem Fall aber wirklich eine Spaltung durch das Ferment vorlag, nicht nur ein teilweises Abscheiden, bewies der

Umstand, dass das jedes Mal in den Filtraten zurückgebliebene Eiweiss sich nicht, wie vorher das Gesammteiweiss, durch vorsichtigen Säurezusatz allein ausscheiden liess, sondern nur durch Kochen mit Säure gewonnen werden konnte. Es war also auch das in Lösung zurückgebliebene Eiweiss durch die Wirkung des Labferments ein völlig anderes geworden.

III. Die Wirkung des Labs auf andere Eiweisskörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs.

Hammarsten stellt die Fällung durch Säure und durch Lab streng einander gegenüber.

Im ersteren Falle wird, wie eben beschrieben, Caseinogen (Hammarstens „Casein") gefällt, das nach der Angabe von Hammarsten der Einwirkung des Labs zugänglich gemacht werden kann durch Lösen in Kalkwasser und Neutralisieren der Lösung mit stark verdünnter Phosphorsäure. Warum aber muss die fragliche Lösung überhaupt neutralisiert werden? Hammarsten bezweckt einzig und allein damit, sie der Milch wieder möglichst ähnlich zu machen, und das gelingt dabei auch insofern, als die neutralisierte Lösung von solchem Caseinogen in Kalkwasser nun ebensowenig wie Milch beim Kochen gerinnt, während sie vor der Neutralisation allein durch einfaches Erhitzen zur Coagulation gebracht werden konnte. Auf diese Ähnlichkeit mit der Milch kann man jedoch ruhig verzichten, wie Versuch 16 beweist, wo auch die nicht neutralisierte Caseinogenlösung durch Lab zur Gerinnung gebracht werden konnte.

Im zweiten Fall, bei der Ausfällung der Milch durch Lab, wird Casein (Hammarstens „Käse") abgeschieden, das Hammarsten als ganz verschieden

vom Caseinogen vor allem deswegen betrachtet, weil seine Lösung in Kalkwasser sich mit Phosphorsäure nicht neutralisieren lässt, ohne einen reichlichen Niederschlag zu geben, und weil dieselbe deswegen auch durch Lab nicht noch einmal ausgefällt werden kann wie die neutralisierte Caseinogenlösung.

Man wird ja von vornherein den grossen Unterschied zwischen dem Caseinogen und dem Casein zugeben, denn ersteres ist der noch nicht gespaltene (Gesamt-)Eiweisskörper der Milch, während bei letzterem schon eine Spaltung dieses Eiweissmoleküls stattgefunden hat, wie ja der Umstand bewies, dass der nach der Labung in Lösung gebliebene Eiweisskörper nicht mehr durch einfachen Zusatz von Säure, sondern nur durch gleichzeitiges Kochen ausgefällt werden konnte, also ebenfalls verändert war.

Der principielle Unterschied von Casein und Caseinogen aber dem Lab gegenüber, welchen Hammarsten hervorhebt, existiert nicht: es gelingt auch, das Casein wieder durch Lab fällbar zu machen und zwar durch Lösen in Kalkwasser allein, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch XVII.

Es wurde das Casein aus einem mit einem Liter Wasser verdünnten Liter Milch durch Lab ausgefällt, abfiltriert, ebenfalls mehrfach gewaschen, wie im vorigen Versuch gereinigt und endlich in Kalkwasser gelöst.

Nach Labzusatz entstand eine starke Fällung.

Damit ist der oben aus den Untersuchungen von Hammarsten entnommene Satz, der auch bislang in der Physiologie stets gegolten hat: dass Lab nur auf das ursprüngliche Milchcasein wirke, hinfällig geworden.

Diese Entdeckung veranlasste mich, zunächst den zuletzt gewonnenen Niederschlag wieder abzufiltrieren und nochmals in Kalkwasser zu lösen. Auch dieser neue Eiweisskörper wurde durch Lab wieder ausgefällt. Ich wiederholte diese Spaltung vier Male hintereinander, jedesmal liess sich der immer schleimiger werdende Eiweisskörper wieder lösen und durch Lab fällen. Dass aber auch hier die Labwirkung auf einer Spaltung beruhte, bewies der Umstand, dass sämmtliche Filtrate bei der Untersuchung noch reichlich Eiweiss enthielten, das sich durch Kochen mit Säure völlig ausschied.

Aber auch das Molkeneiweiss und die bei der jedesmaligen weiteren Spaltung des Caseins in den Filtraten zurückgebliebenen löslichen Eiweisskörper versuchte ich der Labwirkung zugänglich zu machen. Hier musste freilich ein Umweg eingeschlagen werden, wie der folgende Versuch zeigt.

Versuch XVIII.

Es wurde ein Liter Milch mit Labessenz ausgefällt, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit Säure gekocht. Der zuletzt ausgeschiedene Eiweisskörper wurde nach dem Erkalten abfiltriert, ausgewaschen, in verdünnter Sodalösung mehrfach gelöst und wieder durch Säure ausgefällt und schliesslich in Kalkwasser gelöst.

Nach Zusatz von genügendem Lab entstand eine reichliche Eiweissfällung.

Auch dieses durch Lab zur Ausscheidung gebrachte Eiweiss liess sich weiterhin beliebig oft wieder lösen und mit Lab fällen, während die Filtrate stets noch durch Kochen mit Säure ausfällbares Eiweiss enthielten.

Endlich gelang es mir, auch das bei dem mehrmaligen Ausfällen des Caseins und seiner Spaltungsproducte und ebenso des Molkeneiweisses und seiner Spaltungsproducte jedesmal in den Filtraten zurückgebliebene lösliche Eiweiss, nachdem es durch Kochen mit Säure gewonnen, aus Kalkwasserlösungen durch Lab auszufällen.

Alle diese Versuche beweisen deutlich, dass es des Zusatzes von Calciumphosphat nicht bedarf, um die Labwirkung eintreten zu lassen, sondern, dass der Zusatz des Calciums allein genügt. Dass aber Calcium auch unbedingt erforderlich ist, zeigt folgender Versuch:

Versuch XIX.

Ich löste die verschiedenen Eiweissarten, das Caseinogen, das Casein und das Molkeneiweiss statt in Kalkwasser z. T. in kohlensaurer Natronlösung, z. T. in Wasser unter Zusatz von wenig Natronlauge. In diesen Lösungen liess sich durch Lab nicht der geringste Niederschlag erzeugen.

Versuch XX.

Um dem Einwurf zu begegnen, dass nicht die Labwirkung, sondern schon die Wärme des Wasserbades das Ausfällen des Eiweisses herbeiführt, liess ich die drei genannten Eiweisskörper in Kalkwasserlösungen 24 Stunden im Wasserbade stehen; dennoch zeigte sich keine Spur von Fällung. Nach Zusatz von Lab trat dann eine Coagulation ohne Weiteres wieder ein.

Versuch XXI.

Noch war zu untersuchen, ob das Kochen einen derartigen Einfluss auf das Caseinogen und auf das Casein habe, dass die Labwirkung auf dieselben aufhört. Die frisch ausgefällten beiden Substanzen

wurden jede für sich in Wasser fein zerteilt und verrieben, und so eine Stunde in ein kochendes Wasserbad gehängt. Nach völligem Abkühlen wurden sie wieder filtriert, die Rückstände in Kalkwasser gelöst und mit Lab versetzt. Es gab wieder bei beiden eine reichliche Fällung, nur war 4- bis 5fach so viel Lab wie früher erforderlich, als die Eiweisskörper nicht gekocht waren.

Der positive Erfolg meiner Versuche, nicht blos das Casein, sondern auch das zuerst vom Lab nicht coagulirte Molkeneiweiss der Milch unter gewissen Bedingungen doch für die Labwirkung empfänglich zu machen, musste mich veranlassen, trotz der vielen von früheren Forschern vergeblich angestellten Versuche, die Labwirkung auf andere Eiweisskörper nochmals eingehend zu untersuchen. Es schien mir kein Grund vorhanden, nicht auch hier zum Ziel zu kommen.

Zunächst begann ich mit dem Hühnereiweiss Es gelang mir auch wohl, dies Eiweiss auf verschiedene Art und Weise so zu behandeln, dass es sich in Kalkwasser löste; doch — war seine Löslichkeit in dieser Flüssigkeit zu gering, oder lag es sonst an einem von mir nicht erkannten anderen Grunde — eine Ausfällung durch Lab liess sich nicht erzielen. Endlich schlug ich das bei der Darstellung des Lieberkühnschen Alkali-Albuminats angewandte Verfahren ein.

Versuch XXII.

Das Weisse von 10 Hühnereiern wird in einem Glase mit einer Scheere sorgfältig zerschnitten, coliert und durch langsamen Zusatz von Natronlauge zur Gallerte gebracht. Diese wird in bohnengrosse Stücke geschnitten und in 5 Liter Wasser 12 Stunden

lang ausgewaschen, indem das Wasser von Zeit zu Zeit umgerührt und alle Stunde gewechselt wird. Nachdem das Alkali möglichst entfernt ist, werden die Stückchen herausgenommen und in kochendes Wasser geschüttet, in welchem sie sich nach 40 Minuten unter weiterem fortwährenden Kochen auflösen. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit filtriert und das Eiweiss mit verdünnter Essigsäure ausgefällt; diesen Niederschlag filtrierte ich und verrieb ihn sorgfältig in einer Reibschale mit Kalkwasser. Die erhaltene Lösung wurde in vier Teile geteilt, von denen der erste Teil ohne Lab, der zweite mit neutralem, der dritte mit gekochtem und der vierte mit ebensoviel schwach saurem Ferment in das Wasserbad gesetzt wurde. Der erste veränderte sich gar nicht, ebensowenig der dritte; der zweite gab eine deutliche flockige Fällung, und der vierte ein ganz festes Coagulum. Die beim vierten Glase zugesetzte sauer reagierende Labmenge enthielt aber nur 6 Tropfen einer verdünnten Essigsäure, die bei einem Controlversuch der gleichen Eiweisslösungsmenge zugesetzt, dieselbe nicht coagulierten, sondern erst in doppelter Menge allein eine Fällung hervorbrachten.

Damit steht fest, dass Lab auch das ausgefällte und durch Calciumhydrat gelöste Alkalialbuminat aus Hühnereiweiss coaguliert, aber wie es scheint schwieriger, indem das Lab erst bei saurer Reaction zur vollen Wirksamkeit gelangt und ein compactes Coagulum abscheidet.

Dass aber auch zur Ausfällung dieses Eiweisskörpers ebenso wie bei denen der Milch die Gegenwart von Kalk unbedingt erforderlich ist, bewies der Umstand, dass eine gleiche Eiweisslösung, mit verdünnter Natronlauge in Wasser hergestellt, sich durch dasselbe angesäuerte Lab nur

dann coagulieren liess, wenn man soviel hinzufügte, dass, wie der Controlversuch mit Säuretropfen zeigte, die Säure allein den Niederschlag bewirkte.

Endlich liess sich auch hier die Ausfällung beliebig oft hintereinander vornehmen, und dass es sich auch hier um eine Spaltung durch das Enzym handelte, bewies die Thatsache, dass nach der Ausfällung alle Filtrate noch reichlich Eiweiss enthielten, das durch Kochen mit Säure vollständig ausgeschieden werden konnte.

Um die Wirkung des Labs auch auf pflanzliche Eiweissstoffe zu prüfen, stellte ich die letzteren auf folgende Weise dar:

Versuch XXIII.

Ein Kilo feinsten Weizenmehls wird mit 8 Litern Wasser, die 1 ‰ Natriumhydrat enthalten, in einer Reibschale verteilt und verrieben und darauf in 6 grosse Cylinder gegossen. Nach 12 Stunden wird die obere, aus einer hellgelben Flüssigkeit bestehende Schicht davon abgegossen, filtriert und mit verdünnter Essigsäure ausgefällt. Der Niederschlag wird in Kalkwasser gelöst; darauf wird die Lösung in 4 Teile geteilt.

1) Neutralisiert und ohne Lab in 40,5 ° gebracht.
   Es giebt keine Fällung.
2) Neutralisiert und mit gekochtem Lab in 40,5 ° gebracht.
   Es giebt keine Fällung.
3) Neutralisiert und mit ungekochtem Lab in 40,5 ° gebracht.
   Es giebt eine starke Fällung.
4) Alkalisch gelassen und mit Lab in 40,5 ° gebracht.
   Es giebt eine starke Fällung.

Ganz analog den bei dem Alkalialbuminat beschriebenen Versuchen wurde dann ferner nachgewiesen, dass das Labferment auch hier nur bei Gegenwart von Kalk wirksam, dass eine Ausfällung mehrfach hintereinander möglich sei, und dieselbe jedesmal auf einer Spaltung beruhe.

Versuch XXIV.

Auch aus Roggenmehl und Erbsenmehl wird in der oben beschriebenen Weise Eiweiss gewonnen und in Kalkwasser gelöst. Es ist hierbei durchaus darauf zu achten, dass nach dem Ausfällen aus der filtrierten Natriumhydratlösung das Eiweiss nicht erst zu einer festen, breiigen Masse wird, da sich diese nur in geringem Masse löst, sondern die Eiweissflocken müssen direkt in Kalkwasser gelöst werden. Dieselben 4 Versuche wie in Versuch XXIII mit dem Roggen- und Erbseneiweiss wiederholt, führten zu dem gleichen Resultat wie oben.

So wirkt also das Lab nicht allein auf das Caseinogen, sondern auch auf die bei der Labung entstehenden Eiweissarten unter bestimmten Bedingungen, und zwar beliebig oft hintereinander, und ebenso auch auf die verschiedensten Eiweisspräparate tierischen und pflanzlichen Ursprungs. Dabei erweist sich seine Wirkung, die nur bei Gegenwart und in Lösungen von Calciumhydrat eintritt, stets deutlich als ein Spaltungsprozess.

B. **Die labähnlichen Fermente.**

Labähnliche Fermente giebt es im Tier- wie im Pflanzenreich. Angaben darüber finden sich in der Litteratur vereinzelt, aber meist nur Bekanntes wiederholend. So hielt ich es für meine Aufgabe, dies Zerstreute hier zu sammeln und wenn möglich nachzuprüfen, um aus der Reihe dieser labähnlichen Fermente eins herauszufinden, das an Löslichkeit und Wirkungskraft dem Lab möglichst nahe kommend sich für die Anstellung und Wiederholung der oben mit dem Labenzym gemachten Versuche eignete. Nur so war ein Vergleich, eine bestimmte Unterscheidung oder sichere Identifizierung des Labs und der labähnlichen Fermente möglich.

I. Zu Anfang wurde, weil sich die Angabe wiederholt — zuletzt bei Halliburton in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie (1893) — findet, das Hodensecret auf seine Coagulationswirkung geprüft.

Versuch XXV.

Einem geschlachteten Hunde wurden sofort die Hoden herausgenommen, fein zerkleinert, 24 Stunden mit Glycerin extrahiert und filtriert. Eine labende

Wirkung auf die Milch war auch bei 40,5° nach mehreren Stunden nicht erkennbar. Es wurde weiter ein frischer Bullenhoden fein gehackt, ausgepresst, und das Filtrat der Milch zugesetzt, nachdem es neutralisiert war. Auch hier zeigte sich nach längerer Zeit kein Niederschlag, so dass dem Hodensecret ein Labgehalt wohl abzusprechen sein dürfte.

II. Erwähnt seien weiter an dieser Stelle die labproduzierenden Mikroorganismen, obwohl ich selbst Versuche damit nicht angestellt habe, vor allem der Bacillus pyocyaneus, der Bacillus mesentericus vulgatus, welche die Milch bei neutraler und schwach alkalischer Reaktion coagulieren. Ferner der von Constantin Gorini[1]) in Pavia erst im Jahre 1893 aufgefundene und in seiner Wirkung beobachtete Bacillus prodigiosus, der ein Labferment auf Milch wie auch auf den gewöhnlichen Nährmedien der Bacterien bildet und die Gerinnung der Milch sowohl durch Milchsäurebildung, wie durch Labwirkung herbeiführt. Das Temperaturoptimum für seine Wirkung ist 37°, ebenso ist er dem Lab darin ähnlich, dass der Zusatz von Alkalien die Wirkung verzögert und halbstündiges Kochen das Ferment zerstört.

Künftige Arbeiten auf dem Gebiet der Bacteriologie werden, wie mit Sicherheit anzunehmen ist, noch andere neue Bazillen von ähnlicher Wirkung zu Tage fördern, und dieses Gebiet der labähnlichen Fermente in Zukunft noch wesentlich bereichern helfen.

III. Ausserdem prüfte ich dann eine Anzahl der früher schon bekannten labähnlich wirkenden Pflanzen und Pflanzenpräparate, wie Feigen, Artischocken, Labkraut, Disteln und andere.

---

[1]) Hyg. Rundschau 3, 381—382.

In seiner Arbeit „Vegetable rennet" beschreibt Green [1]) noch eine Anzahl von Pflanzen, bei denen er selbst eine Labwirkung festgestellt hat. So Acanthocystios horrida, eine Cucurbitacee der wüsten Küstenstrecken Südwest-Afrikas, deren orangenartige Frucht ein Ferment enthält, das durch Trocknen nicht zerstört wird, dagegen durch Kochen seine Wirkung verliert. Ferner Withania coagulans, eine Solanacee aus Afghanistan, deren Same Labferment enthält, weiter Datura stramonium, bei der nur im unreifen, nicht im reifen Samen das Ferment sich findet, endlich Clematis vitalba und Pinguicula vulgaris. Da mir die betreffenden Pflanzen nicht zur Verfügung standen, so war eine Nachuntersuchung nicht möglich.

Dagegen stellte ich Versuche an mit den sogenannten fleischfressenden, Pepsin enthaltenden Pflanzen, wie Saracenia flava und Drosera rotundifolia; dieselben ergaben jedoch negative Resultate. Von der Prüfung des Sauerampfers, des Sauerklees und der Galläpfel, die schon in früheren Arbeiten genannt werden, konnte ich füglich absehen, da der Grund ihrer coagulierenden Wirkung in dem Säuregehalt einerseits und dem Tanningehalt andererseits gelegen ist.

Mit den Früchten und Blättern von Ficus Carica stellte ich folgende Versuche an:

Versuch XXVI.

Eine Anzahl grosser getrockneter Feigen — nur solche standen mir zur Verfügung — wurden mit 100 Gramm destillirtem Wasser aufgeweicht, bis sie stark gequollen waren und fast die Form von frischen Feigen wieder erhalten hatten, und dann in

[1]) Nature XXXVIII, pag. 274—76, 1893.

der Reibschale fein zerquetscht. Der ausgepresste Saft, der sauer reagierte, wurde mit verdünnter Kalilauge neutralisiert, und folgende Versuche nebeneinander gemacht:

	No.	Feigensaft gtt	Temperatur	Wirkung
10 ccm rohe Milch + 10 ccm aq.dest.	1	10	15 °	Keine Fällung.
	2	10	40,5 °	Fällung in 5 Min.
	3	50	15 °	Keine Fällung.
	4	50	40,5 °	Sofort Fällung.
	5	—	40,5 °	Keine Fällung.
	6	50 gekochtes Ferment	40,5 °	Keine Fällung.
10 ccm gekochte Milch + 10 ccm aq.dest.	7	10	15 °	Keine Fällung.
	8	10	40,5 °	Fällung in 5 Min.

Daraus geht hervor, dass auch die getrockneten Früchte von Ficus Carica ein Ferment enthalten, das dem Lab in sofern gleich ist, als es:

1) nur bei **40,5** ° wirksam ist, bei Zimmertemperatur (15 °) selbst in grösseren Dosen nicht,
2) bei neutraler Reaction wirkt,
3) bei grösserem Zusatz in um so kürzerer Zeit labt,
4) durch Kochen zerstört wird,
5) auf gekochte Milch zwar langsamer als auf rohe, aber doch auch noch wirkt.

Ferner wurde die Wirkung dieses Saftes mit Erfolg erprobt an Lösungen von Caseinogen, Casein und Molkeneiweiss in Kalkwasser, und zwar wiederholt hintereinander, wobei auch hier jedesmal das Eiweiss in ein lösliches und unlösliches gespalten wurde. Dieselben Eiweisskörper wurden aus Natronlaugenlösung durch den Feigensaft nicht ausgefällt.

Daraus geht weiter hervor, dass dies labähnliche Ferment

6) nicht nur auf das Eiweiss der Milch wirkt, sondern auch auf die aus demselben künstlich durch Spaltung mit Lab hergestellten Eiweisskörper,
7) dieselben mehrfach hintereinander ausfällt,
8) nur bei Gegenwart von Calcium labt,
9) stets nur einen Teil des jeweilig vorhandenen Eiweisses coaguliert, also das gesammte Eiweiss in ein lösliches und unlösliches spaltet.

Nun hätte es am nächsten gelegen, mit diesem Ferment auch die übrigen Versuche wie mit dem Lab zu machen, vor allem sein Verhalten zu anderen Eiweisskörpern und seine Wirkung bei Gegenwart fremder Substanzen zu prüfen; allein es eignete sich nicht, weil nach der Neutralisation binnen wenigen Minuten in Folge der Alkaliwirkung auf die reichlich in der Flüssigkeit enthaltenen Pectinkörper eine feste, nicht mehr tropfbare Gallerte entstand, deren Filtrat völlig unwirksam war, weil das Ferment mit den Pectinkörpern niedergerissen wurde und auf dem Filter zurückblieb. Ich musste also von weiteren Versuchen mit diesem Ferment abstehen, nachdem verschiedene andere Methoden, es für den Gebrauch geeignet zu machen, gescheitert waren.

Auch die Feigenblätter enthielten, wie ein Versuch bewies, nur geringe Fermentmengen. Die Blätter wurden in einer Fleischhackmaschine fein zerkleinert, der Brei 24 Stunden lang mit 0,6procentiger Kochsalzlösung extrahiert, ausgepresst, filtriert und neutralisiert. Es wurden 50 ccm Milch von 20 ccm Blätterextract in 19 Minuten gelabt.

Noch auf andere Pflanzen erstreckten sich meine Untersuchungen:

Die Stengel, Blätter und Blüten des Labkrauts (Galium), und zwar der Species Mollugo, Mitte Juni frisch gepflückt, wurden fein zerquetscht, ausgepresst und das Filtrat neutralisiert. Es labten davon:

50 ccm Saft,	dagegen 25 ccm Saft,
200 ccm Milch	200 ccm Milch
bei 15° nicht,	bei 40.5° in 2 Minuten.

So trägt also — entgegen der Ansicht von Baginsky[1]) — das Labkraut seinen Namen nicht mit Unrecht.

Es werden die frischen Blätter von Cynara Scolymus gewaschen, fein zerrieben, sofort durch ein reines Tuch gepresst und das Filtrat neutralisiert. Es bedurfte aber auch hier, trotzdem der Saft der Blätter durch Wasser nicht verdünnt war, einer grossen Menge: 20 ccm dieser Flüssigkeit brachten 50 ccm Milch erst in 16 Minuten zur Coagulation. Die Blüten und Fruchtböden dieser Pflanze, mit denen Baginsky gute Resultate erzielte, standen mir für meine Versuche leider nicht zur Verfügung.

Von Distelarten untersuchte ich die grosse ausländische Art Carduus macrocephalus, ferner Carduus Summanus und Cousinia Hystrix in frischem Zustande, Carduus benedictus in getrocknetem Zustande. Die ersteren wurden fein zerrieben, ausgepresst und der Saft zum Teil neutralisiert. Die angestellten Versuche mit dieser Lösung ergaben bei allen dreien eine kräftige Labwirkung bei 40°, und zwar stärker bei saurer als bei alkalischer Reaction, rascher auf rohe als auf gekochte und auf reine wie auf verdünnte Milch, gerade wie das Lab.

[1]) Z. f. phys. Chem. VII, pag. 211.

Auch waren in den filtrierten Molken durch Kochen mit Säure noch reichliche Eiweissmengen nachzuweisen, so dass auch dies in den Disteln enthaltene Ferment das vorhandene Eiweiss spaltet. Ebenso liess sich das Molkeneiweiss aus einer Kalkwasserlösung durch dasselbe Ferment wieder ausfällen, wie auch das zuerst durch dasselbe ausgefällte Casein sich beliebig oft aus dem Kalkwasser — nicht aus Sodalösung — mit ihrer Hülfe zur Coagulation bringen liess, während stets noch ein durch Kochen mit Säure ausfüllbarer Eiweisskörper zurückblieb.

Das trockne Kraut von Carduus benedictus wurde dreimal 24 Stunden in 0,6procentiger Kochsalzlösung aufgeweicht, ausgepresst, die Flüssigkeit bei 40,5 ° langsam auf ein Viertel ihres Volumens eingedampft und neutralisiert. Eine labende Wirkung war in keinem der damit angestellten Versuche bemerkbar.

Schon durch eine Notiz bei Baginsky [1]) und durch spätere Autoren wurde ich auf den Saft von Carica papaja aufmerksam gemacht. Zwar hatte schon E. Weeg in Bonn 1885 „Über Papain" gearbeitet, aber über die labähnliche Wirkung keinerlei Versuche angestellt, sondern nur über dessen Ähnlichkeit mit dem Pepsin, indem der Verfasser die verdauende Kraft dieses Ferments nachwies. Doch war die labähnliche Wirkung dieser Substanz schon Wittmack bekannt, welcher Milch durch eine fast unwegbare Spur eingetrockneten Saftes, allerdings erst bei 85 ° Celsius, sofort zum Gerinnen gebracht hatte.

Obgleich somit auch bei diesem Ferment wenig Aussicht vorhanden war, eine Lösung zu gewinnen,

---

[1]) a. a. O.

die an Wirkungskraft der von mir benutzten Labessenz Witte ungefähr gleich sei, und bei 40° wirksam, so liess ich mir doch von E. Merck in Darmstadt 20 Gr. des zu Pulver eingetrockneten Saftes dieser Pflanze schicken, um damit Versuche anzustellen, die dann von überraschendem Erfolge waren.

Ich stellte mir für meine Versuche eine gut tropfbare, hinreichend starke Papainlösung her, indem ich 5 Gr. des Pulvers in 50 Gr. Wasser und 25 Gr. Glycerin löste, 24 Stunden stehen liess und dann die strohgelbe Flüssigkeit, an Farbe der Labessenz ganz ähnlich, filtrierte. Auch dieses Ferment wurde stets vor grösseren Versuchsreihen neutralisiert. Bei den genau wie oben mit dem Lab angestellten Versuchen ergab sich folgendes:

1) Das Papain labt die Milch.
2) Saures Papain wirkt schneller als neutrales und alkalisches.
3) Ebenso wirkt es schneller bei saurer Reaction der Milch.
4) Das Kochen der Lösung zerstört die Fermentwirkung gänzlich.
5) Die Temperaturgrenzen liegen zwischen 18° und 55°, das Optimum wenige Zehntel höher als beim Lab, bei 41°.
6) Fermentmenge und Gerinnungsdauer verhalten sich umgekehrt proportional, doch so, dass ein zu geringer Fermentzusatz gar nicht wirkt, ein zu hoher eine Beschleunigung über eine gewisse Menge hinaus nicht erzielt.
7) Die Verdünnung der Milch verzögert nicht wie beim Lab die Gerinnung, sondern befördert sie. Eine Erklärung dieser auffälligen Thatsache ist mir nicht gelungen.

doch führten alle Controlversuche zu demselben Ergebnis. Die Verdünnung wurde ganz verschieden genommen; hier sei nur einer der vielen Versuche aufgeführt:

Versuch XXVII.

No.	Mischung 25 ccm	Papain gtt.	G.-Z. bei 18° C.	G.-Z. bei 41° C.
1	Reine Milch	10	—	18
2	Reine Milch	15	—	7
3	1 : 1 W	10	—	8
4	1 : 1 W	15	20	4
5	1 : 2 W	10	24	5
6	1 : 2 W	15	4	3

Wie der Versuch zeigt, befördert die Verdünnung die Schnelligkeit der Gerinnung in dem Masse, dass 1 : 2 W verdünnte Milch mit 10 Tropfen Papain eher gerinnt, wie reine Milch mit 15 Tropfen, und dass eine Papainmenge, die bei 18° auf unverdünnte Milch überhaupt nicht wirkt, bei der Verdünnung 1 : 2 die Coagulation in kürzester Zeit herbeiführt.

8) Das Kochen der Milch verzögert dagegen — gerade wie beim Lab — die Fermentwirkung.

Versuch XXVIII.

25 ccm

No.	Milch	Papain gtt.	G.-Z.
1	Ungekocht	15	7
2	Gekocht	15	26
3	Gekocht	50	8

Nach allen diesen Ergebnissen scheint zwischen dem Lab und dem Papain eine ungemeine Ähnlichkeit

zu bestehen, die sich fast als Identität bezeichnen lässt, wenn man das mit dem Lab übereinstimmende Verhalten des Papains in seiner Wirkung auf die Milch bei Gegenwart fremder Substanzen in folgenden Versuchen betrachtet, die im Wasserbad von 41° gemacht wurden.

Versuch XXIX.

25 ccm 1 : 1 verdünnte Milch erhalten an Papain und an fremden Substanzen:

No.	Fremde Substanz	Papain gtt.	G.-Z. bei 4 %	Papain gtt.	G.-Z. bei 1 %
1	H_2O	15	7	10	31
2	KCl	15	4	10	21
3	KNO_3	15	6	10	25
4	K_2SO_4	15	$5^1/_2$	10	25
5	NaCl	15	$5^1/_2$	10	24
6	$NaNO_3$	15	6	10	25
7	Na_2SO_4	15	$6^1/_2$	10	27
8	NH_4Cl	15	11	10	51
9	NH_4NO_3	15	11	10	53
10	$(NH_4)_2SO_4$	15	12	10	65

In beiden Versuchen ist die Reihenfolge genau dieselbe, wenn wir die gleichzeitig geronnenen Substanzen beliebig anordnen dürfen, nämlich:

1) KCl	Beim Lab	1) Ohne Substanz
2) NaCl	war die	2) KCl
3) K_2SO_4	Reihenfolge:	3) NaCl
4) $NaNO_3$		4) K_2SO_4
5) KNO_3		5) $NaNO_3$
6) Na_2SO_4		6) KNO_3
7) Ohne Substanz		7) Na_2SO_4
8) NH_4Cl		8) NH_4Cl
9) NH_4NO_3		9) NH_4NO_3
10) $(NH_4)_2SO_4$		10) $(NH_4)_2SO_4$.

Die Reihenfolge ist bei beiden Fermenten also dieselbe, der Einfluss der Substanzen der gleiche, nur besteht der Unterschied, dass beim Lab alle Salze hindernd, beim Papain dagegen die K- und Na-Salze fördernd wirken, und erst die Ammoniumsalze hemmen. Das kann jedoch auf nebensächlichen Beimischungen und den von einander verschiedenen Bestandteilen der Essenzen beruhen; denn die Labessenz Witte ist noch anders zusammengesetzt als die von mir bereitete Papainlösung, und auch das angewandte Merckpapain an sich ist kein reines Präparat. Die Hauptsache ist, dass die Reihenfolge der Salze stets dieselbe bleibt.

Dieselbe Übereinstimmung ergab sich bei den Versuchen mit den oben verwendeten Alkaloiden.

Versuch XXX.

50 ccm einer Mischung 1 : 1 erhalten je 5 Tropfen Papain und je 40 Tropfen einer 2procentigen Lösung:

No.	Substanz	G.-Z.
1	Aq. dest.	27
2	Chinin	10
3	Morphin	14
4	Strychnin	16
5	Veratrin	17
6	Coffein	20

Die Reihenfolge nach der Gerinnungszeit ändert sich folgendermassen:

1) Chinin	Beim Lab	1) Chinin
2) Morphin	war die	2) Morphin
3) Strychnin	Reihenfolge:	3) Strychnin
4) Veratrin		4) Veratrin
5) Coffein		5) Coffein
6) Aq. dest.		6) Aq. dest.

So ist auch bei Benutzung dieser Stoffe eine völlige Uebereinstimmung der Reaction der beiden Fermente vorhanden: alle Substanzen wirken fördernd in der gleichen Aufeinanderfolge.

Endlich wird gerade wie beim Lab die Fermentwirkung des Papains durch die Anwesenheit von Kalkwasser gehemmt:

Versuch XXXI.

25 ccm von einer Mischung 1 : 1 erhalten je 10 Tropfen Papain, und die einzelnen Gläser je 0, 1, 2, 3, 4, 5 ccm Kalkwasser:

No.	Kalkwasser ccm	G.-Z.
1	0	8
2	1	10
3	2	12
4	3	12
5	4	27
6	5	—

Also selbst die Wasserverdünnung, die zugleich mit dem Zusatz des Kalkwassers hier stattfindet, vermag die hindernde Wirkung dieser fremden Substanz nicht aufzuheben.

Gerade wie das Lab auf das Eiweiss der Milch und auch auf andere Eiweisskörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs coagulierend wirkt, so ist es auch bei dem Papain, wie die folgenden Versuche beweisen, welche die genaue Wiederholung der oben angestellten (Versuche XVI bis XVIII) sind, nur mit dem Unterschiede, dass statt des Labs Papain den Lösungen zugesetzt wird.

Versuch XXXII.

Das aus der (1 : 10) verdünnten Milch durch Säure ausgefällte und gereinigte Caseinogen wird in Kalkwasser gelöst und giebt mit Papain bei 41° nach 10 Minuten ein dickes, flockiges Coagulum.

Versuch XXXIII.

Das aus der (1 : 1) verdünnten Milch durch Lab ausgefällte und ausgewaschene Casein wird aus Kalkwasser mit Papain bei 41° nach 8 Minuten in grossen Mengen ausgefällt.

Versuch XXXIV.

Das durch Kochen mit Säure gewonnene Molkeneiweiss lässt sich nach sorgfältiger Reinigung in Kalkwasser lösen und bei 41° mit Papain als feinflockiges reichliches Gerinnsel wieder ausscheiden.

Versuch XXXV.

Eine Lösung dieser drei Eiweisskörper in Kalkwasser schied selbst nach 24 Stunden trotz einer Temperatur von 41° spontan nicht die geringsten Eiweissspuren aus, ein Beweis, dass nicht die Wärmewirkung allein die Fällung veranlasste.

Versuch XXXVI.

Ferner wurden die beiden ersten Eiweisskörper in Wasser fein zerteilt, eine halbe Stunde im Wasserbade gekocht, das Eiweiss nach dem Erkalten wieder abfiltriert, in Kalkwasser gelöst, und den Lösungen bei 41° Papain zugesetzt, worauf die früheren Niederschläge sofort wieder auftraten. Doch bedurfte es hier doppelt so viel Ferments wie vorher, ehe sie gekocht waren, da bei dem Zusatz einer gleichen

Menge wie früher in den Versuchen XXXII und XXXIII eine Fällung in 24 Stunden nicht eintrat, bei doppeltem Zusatz aber sich binnen 10 Minuten wieder zeigte.

Versuch XXXVII.

Von den Präparaten des pflanzlichen Eiweisses beschränkte ich mich auf ein beliebiges der oben benutzten, auf das Weizeneiweiss, das ich genau wie vorher darstellte, in Kalkwasser löste und neutralisierte. Bei reichlichem Papainzusatz wurde das Eiweiss in grossen Mengen ausgefällt.

Dass die Art der Einwirkung auch bei dem Papain in einer Spaltung besteht, geht aus dem folgenden Versuch hervor:

Versuch XXXVIII.

Ich filtrierte die drei in Versuchen XXXII bis XXXIV mit Papain aus Kalkwasser ausgefällten Eiweisskörper ab, löste dieselben aufs Neue in Kalkwasser und fügte Papain hinzu. Bei 41° entstand wieder reichliche Fällung. Dieses Lösen und Wiederausfällen setzte ich mehrere Male hintereinander fort, und jedes Mal ergab auch hier das Filtrat durch Kochen mit Säure einen reichlichen Eiweisskörper.

Dass auch für die Wirkung des Papains die Gegenwart von Calcium unbedingt notwendig ist, zeigt der folgende Versuch:

Versuch XXXIX.

Die 4 benutzten Eiweisskörper, das Caseinogen, das Casein, das Molkeneiweiss und das Weizeneiweiss werden in Sodalösung gelöst und Papain zugesetzt. Selbst nach 24 Stunden war keine Fällung bemerkbar.

IV. Um nun den strictesten Beweis zu liefern, dass sowohl das Papain wie die anderen pflanzlichen Fermente mit dem Lab als identisch zu betrachten sind, liess ich drei verschiedene Fermente, das Lab, das Papain und den Saft von Causinia Hystrix abwechselnd hintereinander auf dieselben Eiweissstoffe und zwar auf Casein, Molkeneiweiss und Weizeneiweiss in folgenden Versuchen wirken:

1. Ausfällung von Casein.

Versuch XL.

1) Milch wird mit Lab ausgefällt, das Casein in Kalkwasser gelöst.

2) Die Lösung wird mit Papain ausgefällt, abfiltriert und der Rückstand wieder in Kalkwasser gelöst.

3) Diese Lösung wird durch den Saft von Causinia Hystrix wieder ausgefällt, abfiltriert und der Rückstand in Kalkwasser gelöst.

4) Bei Labzusatz gerinnt auch diese Lösung wieder.

Versuch XLI.

1) Milch wird durch Papain ausgefällt, das Casein abfiltriert und in Kalkwasser gelöst.

2) Lab fällt diese Lösung wieder; nach Abfiltrieren der Fällung wird dieselbe wieder in Kalkwasser gelöst.

3) Der Saft von Causinia Hystrix bringt auch hier wieder eine Coagulation zu Stande.

4) Nach abermaligem Lösen wirkt das Papain gerade wie zuerst, indem es ein starkes Gerinnsel abscheidet.

Versuch XLII.

Eine ganz ähnliche Wiederholung, nur mit der veränderten Reihenfolge, dass zuerst Causinia, dann Lab, darauf Papain und zum Schluss wieder Causinia einwirkt, giebt dasselbe Resultat.

2. **Ausfällung von gekochtem Molkeneiweiss.**

Versuch XLIII.

Es wird Milch durch Lab coaguliert, das Molkeneiweiss durch Kochen mit Säure gewonnen, in Kalkwasser gelöst und die Lösung in 3 Teile gespalten, denen Lab, Papain und Saft von Causinia zugesetzt werden. Alle 3 Lösungen gerinnen.

Versuch XLIV.

Es wird Milch mit Papain gefällt, das gekochte Molkeneiweiss in Kalkwasser gelöst und in 3 Teile geteilt, die sich mit Papain, Lab und Causinia ausfällen lassen.

Versuch XLV.

Das gleiche Verfahren mit dem Molkeneiweiss einer durch Causinia geronnenen Milch giebt dieselben Resultate.

3. **Die Ausfällung von Weizeneiweiss.**

Die Versuche XL bis XLII werden mit dem Weizeneiweiss wiederholt; sowohl das direkt durch eines der 3 Fermente abgespaltene, sowie das jedesmal in Lösung gebliebene und erst durch Kochen mit Säure gewonnene Eiweiss lässt sich durch die 3 Fermente in beliebiger Reihenfolge ausfällen.

Ziehen wir das Resultat aus diesen Versuchen, indem wir die Eiweisskörper wechselweise mit verschiedenen Fermenten ausfällen, so müssen wir sagen, dass die Identität der labähnlichen Fermente mit dem Lab durch diese Versuche als bestimmt erwiesen gelten kann.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Mit Lab gelingt es, nicht nur die natürliche oder künstliche Lösung des Milchcaseinogens, sondern auch Lösungen des Caseins und des gekochten Molkeneiweisses, sowie der verschiedensten Eiweisskörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs unter bestimmten Bedingungen, insbesondere bei Gegenwart von Calciumhydrat auszufällen, und auch diese ausgefällten und wieder in Lösung gebrachten Eiweisskörper beliebig oft von neuem auszufällen.

2. Bei dieser Ausfällung wird stets beobachtet, dass ein Teil des Eiweisses in Lösung bleibt, also wohl eine Spaltung des Eiweiss-Moleküls eingetreten ist. (Hammarsten.)

3. In der Wirkung dem tierischen Lab in jeder Beziehung gleich sind die Labfermente des Pflanzenreichs, insbesondere durch ihr vollständig gleiches Verhalten auch bei Gegenwart fremder Substanzen, sowie durch die Möglichkeit, dass sie jederzeit mit derselben Wirkung an Stelle des Labs verwandt werden können.

Zum Schluss gestatte ich mir, Herrn Prof. Dr. Nasse, in dessen Institut ich die vorliegende Arbeit anfertigte, und welcher mir bei Ausführung der Experimente durch genaue Controle derselben einen grossen Dienst leistete, meinen wärmsten Dank auszusprechen.